

AKTIVITAS ANTIMALARIA SENYAWA FLAVANON TERISOPRENILASI DARI KULIT BATANG *Erythrina fusca* L.

Novi Fatmawati, Novi Anggreini, Ratih Dewi Saputri, Tjitjik Srie Tjahjandarie, Mulyadi Tanjung*

Natural Products Chemistry Research Group, Organic Chemistry Division,

Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga, Surabaya 60115, Indonesia

*Corresponding Author : mulyadi-t@fst.unair.ac.id

Submit : 11 Januari 2018 Accepted : 20 April 2018

ABSTRACT

Two isoprenylated flavanones namely as lonchocarpol A (**1**) dan lupinifolin (**2**) were isolated from the stem bark of *Erythrina fusca* L. Their structures were determined based on spectroscopic data such as UV, IR, MS and NMR. Compounds **1–2** were evaluated for their antimalarial against *Plasmodium falciparum* strain 3D7 showing their IC₅₀ were 1.18 and 0.8 µg/ml, respectively and very high activity.

Keywords : *Erythrina fusca* L., lonchocarpol A, lupinifolin, antimalarial

PENDAHULUAN

Malaria merupakan salah satu penyakit tropis yang menyebabkan kematian terutama anak-anak. Penyakit ini disebabkan oleh gigitan nyamuk yang mengandung parasit *Plasmodium* antara lain *Plasmodium falciparum*. *Erythrina fusca* L. yang dikenal dengan nama dadap cangkring. Tumbuhan ini dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat demam, sakit gigi, batuk, melancarkan haid, dan sebagai obat malaria [1]. Pemanfaatan tumbuhan ini dalam pengobatan tradisional tentunya berhubungan dengan senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan *E. fusca* L.

Flavonoid merupakan senyawa fenolik utama yang ditemukan pada genus *Erythrina* [2]. Ciri khas senyawa flavonoid pada genus *Erythrina* mempunyai substituen isoprenil (C₅) dan geraniil (C₁₀) yang terikat pada inti aromatik flavonoid. Senyawa flavonoid *Erythrina* terdiri dari golongan pterokarpan, flavonoid, neoflavonoid dan isoflavonoid. Senyawa flavonoid *Erythrina*. memperlihatkan aktivitas biologis yang menarik antara lain sebagai antimalaria dan antikanker [3-5].

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa flavanon terisoprenilasi dari kulit batang *Erythrina fusca* L. Pada kesempatan kali ini akan dilaporkan tentang isolasi dua senyawa flavanon terisoprenilasi, yakni lonchocarpol A (**1**) dan lupinifolin (**2**) dari kulit batang *E. fusca* L. Selain itu juga akan dilaporkan aktivitas antimalaria kedua senyawa flavanon terisoprenilasi terhadap *Plasmodium*

falciparum strain 3D7 yang sensitif terhadap klorokuin.

METODE PENELITIAN

Prosedur umum

Spektrum UV ditetapkan dengan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1800. Spektrum IR ditentukan dengan spektrofotometer IR Perkin Elmer. Spektrum massa ditentukan dengan spektrometer HR-ESI-MS merck Waters LCT XE ESI. Spektrum NMR ditentukan dengan spektrometer NMR JEOL ECA 400 yang beroperasi pada 400 MHz (¹H-NMR) dan 100 MHz (¹³C-NMR). Kromatografi kolom gravitasi menggunakan silika gel 60 (Merck), kromatografi radial menggunakan silika gel 60 PF₂₅₄ (Merck) dan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan plat KLT silika gel 60 GF₂₅₄ 0.25 mm (Merck).

Sampel penelitian

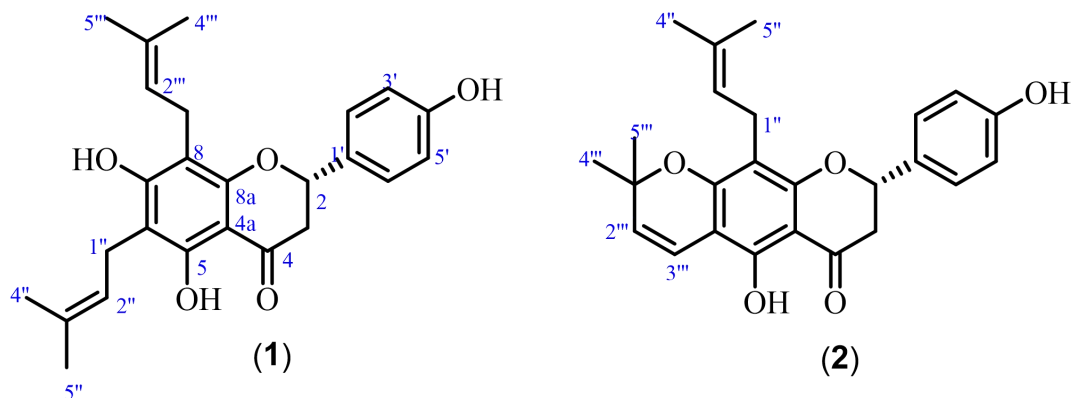
Sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian berupa kulit batang dari tumbuhan *E. fusca* L. yang diperoleh dan diidentifikasi di Kebun Raya LIPI Purwodadi, Jawa Timur.

Ekstraksi dan isolasi flavonoid terisoprenilasi

Ekstraksi kulit batang *E. fusca* L. sebanyak 2,5 kg menggunakan metanol pada suhu kamar sebanyak dua kali selama 24 jam. Ekstrak metanol yang diperoleh dipekatkan dengan alat penguap bertekanan rendah sehingga diperoleh ekstrak kental metanol berwarna coklat (250 g). Ekstrak metanol selanjutnya dipartisi

dengan *n*-heksana menghasilkan ekstrak *n*-heksana dan ekstrak metanol. Ekstrak metanol selanjutnya ditambahkan asam sulfat 5% pH 3-4 kemudian dipartisi dengan etil asetat menghasilkan ekstrak etil asetat dan fasa asam. Ekstraksi ini bertujuan untuk memisahkan senyawa flavonoid dan alkaloid [6,7]. Pemisahan ekstrak etil asetat (21 g) dengan kolom vakum cair menggunakan campuran eluen *n*-heksana:etil asetat (9:1, 8:2, dan 1:1) menghasilkan empat fraksi utama A-D. Berdasarkan analisis KLT,

fraksi B memperlihatkan pendaran warna ungu dengan lampu UV. Pemisahan fraksi D dengan kromatografi kolom gravitasi dengan eluen *n*-heksana:etilasetat (9:1 sampai 7:3) menghasilkan tiga subfraksi B₁-B₃. Pemurnian subfraksi B₂ dilakukan dengan kromatografi radial dengan menggunakan eluen *n*-heksana:aseton (9:1 sampai 4:1) menghasilkan senyawa lonkokarpol (1) sebanyak 15 mg dan lupinifolin (2) sebanyak 9 mg.



Gambar 1. Struktur lonkokarpol A (1) dan lupinifolin (2)

Uji aktivitas antimalaria

Penentuan uji aktivitas antimalaria senyawa 1-2 terhadap *Plasmodium falciparum* strain 3D7 yang sensitif terhadap klorokuin menggunakan modifikasi Trager dan Jensen dalam medium RPMI 1640 dan 5 % serum darah O [8,9]. Penentuan aktivitas antimalaria masing-masing senyawa dilarutkan dalam DMSO dan dibuat variasi konsentrasi uji sebanyak triplo (100; 50; 10; 5; 50 dan 1; 0,5 dan 0,1 µg/ml). Klorokuin diphosfat digunakan sebagai kontrol positif dan kontrol negatif menggunakan sel darah merah.

Bahan uji dilarutkan dalam DMSO dalam berbagai konsentrasi sebanyak 20 µL larutan dan

diencerkan dengan 180 µL medium lengkap (medium RPMI 1640 yang ditambahkan 5% serum darah O) hingga diperoleh berbagai macam kadar. Bahan uji diinkubasi selama 48 jam, dibuat hapusan darah tipis dan diwarnai dengan pewarna Giemsa. Hapusan darah diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 5000 kali untuk menghitung jumlah eritrosit yang terinfeksi. Analisis data nilai IC₅₀ ditentukan berdasarkan persentase daya hambat parasitemia menggunakan aplikasi program SPSS. Persentase daya hambat parasitemia ditentukan menurut persamaan:

$$\% \text{ Hambatan} = 100\% - \left(\frac{\text{Rerata \% penghambatan parasitemia perlakuan}}{\text{Rerata \% penghambatan parasitemia kontrol}} \times 100\% \right)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dua senyawa flavanon terisoprenilasi, yakni lonkokarpol A (1) dan lupinifolin (2) telah berhasil diisolasi dari ekstrak etil asetat kulit batang *E. fusca* L. Struktur kedua senyawa ditetapkan berdasarkan spektroskopi UV, IR, MS, 1D dan 2D NMR.

Lonkokarpol A (1) berwujud padatan kuning memperlihatkan ion kuasimolekul positif [M+H]⁺ pada *m/z* 409,2015 yang sesuai dengan

rumus molekul C₂₅H₂₈O₅ berdasarkan analisis spektrum HRESIMS. Spektrum UV senyawa 1 dalam metanol memberikan serapan maksimum pada λ_{maks} (log ε) : 208 (4,75), 257 (4,81), 306 sh (4,80) yang merupakan ciri khas senyawa flavanon [10]. Spektrum IR senyawa 1 dalam KBr memperlihatkan pita serapan pada ν_{maks}: 3425 (OH), 1726 (C=O lakton terkonyugasi), 1546-1448 (C=C aromatik) dan 1124 (eter). Spektrum ¹H-NMR (400 MHz, Tabel-1) senyawa

1 dalam CDCl_3 memperlihatkan tiga buah sinyal proton *doublet doublet* pada δ_{H} 5,30 (1H, *dd*, $J = 13,0$; 3,0 Hz; H-2), δ_{H} 3,03 (1H, *dd*, $J = 17,0$; 13,0 Hz; H-3_{ax}), dan δ_{H} 2,79 (1H, *dd*, $J = 17,0$; 3,0 Hz; H-3_{eq}) yang merupakan ciri khas struktur flavanon [2]. Spektrum ^1H -NMR senyawa **1** memperlihatkan sinyal proton aromatik yakni sepasang sinyal *doublet* ($J = 8,4$ Hz) pada δ_{H} 7,30 (H-2'/6') dan δ_{H} 6,85 (H-3'/5') yang khas untuk aromatik monosubstitusi di cincin B [2]. Dengan tidak adanya sinyal proton aromatik pada cincin A menunjukkan adanya substituen di C-6 dan C-8. Sinyal *singlet* pada δ_{H} 12,30 merupakan ciri proton hidroksi (C-5) yang membentuk chelat dengan karbonil di C-4. Sinyal proton kedua gugus isoprenil yang terikat di C-6 dan C-8 ditandai adanya dua sinyal *triplet* dari proton vinilik ($J = 7,0$ Hz) pada δ_{H} 5,22 (H-2''), δ_{H} 5,20 (H-2'''), dua sinyal *doublet* metilen ($J = 7,2$ Hz)

pada δ_{H} 3,33 (H-1''), δ_{H} 3,28 (H-1''') serta empat sinyal *singlet* metil pada δ_{H} 1,80 (H-4''), δ_{H} 1,73 (H-4'''), δ_{H} 1,70 (H-5''), dan δ_{H} 1,68 (H-5'''). Spektrum ^{13}C NMR (percobaan APT, 100 MHz) senyawa **1** memperlihatkan 23 sinyal atom karbon yang mewakili 25 sinyal karbon. Sinyal karbon pada δ_{C} 78,6, δ_{C} 43,3 dan δ_{C} 196,8 merupakan ciri khas untuk kerangka senyawa flavanon. Tiga sinyal karbon oksiaril pada δ_{C} 162,5, δ_{C} 159,4 dan δ_{C} 156,2 menunjukkan senyawa flavanon merupakan turunan naringenin (5,7,4'-trihidroksi flavanon). Berdasarkan analisis spektrum ^1H dan ^{13}C NMR maka senyawa **1** adalah 6,8-diisoprenil-5,7,4'-trihidroksi flavanon atau dikenal sebagai lonkokarpol A [11]. Penempatan sinyal proton dan sinyal karbon senyawa **1** didukung oleh spektrum HMQC dan HMBC seperti terlihat pada Gambar 2.

Tabel 1. Data spektrum NMR senyawa lonkokarpol A (**1**) dalam CDCl_3 .

No. C	δ_{H} (mult, J Hz)	δ_{C}	HMBC
2	5,30 (<i>dd</i> , 13,0, 3,0)	78,6	C-1', C-2'/6', C-4
3	3,03 (<i>dd</i> , 13,0, 17,0) _{ax} 2,79 (<i>dd</i> , 17,0, 3,0) _{eq}	43,3	C-2, C-1', C-4, C-4,
4	-	196,8	-
4a	-	102,9	-
5	-	159,4	-
6	-	107,4	-
7	-	162,5	-
8	-	106,6	-
8a	-	157,9	-
1'	-	130,9	-
2'/6'	7,30 (<i>d</i> , 8,4)	127,3	C-2, C-2'/6', C-3'/5', C-4'
3'/5'	6,85 (<i>d</i> , 8,4)	115,6	C-1', C-3'/5', C-4'
4'	-	156,2	-
1''	3,33 (<i>d</i> , 7,2)	22,0	C-5; C-6, C-7; C-2'', C-3''
2''	5,22 (<i>t</i> , 7,2)	122,0	C-1'', C-4'', C-5''
3''	-	134,8	-
4''	1,80 (<i>s</i>)	17,9	C-2'', C-3'', C-5''
5''	1,70 (<i>s</i>)	25,9	C-2'', C-3'', C-4''
1'''	3,28 (<i>d</i> , 7,2)	21,3	C-7; C-8, C-8a; C-2''', C-3'''
2'''	5,20 (<i>t</i> , 7,2)	121,8	C-1''', C-4''', C-5'''
3'''	-	134,0	-
4'''	1,73 (<i>s</i>)	17,8	C-2''', C-3''', C-5'''
5'''	1,68 (<i>s</i>)	25,9	C-2''', C-3''', C-4'''
5-OH	12,30 (<i>s</i>)	-	C-4a, C-5, C-6

Lupinifolin (**2**) berwujud padatan kuning dan memperlihatkan ion kuasimolekul positif $[\text{M}+\text{H}]^+$ pada m/z 407,1863 yang sesuai dengan rumus molekul $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_5$ berdasarkan analisis spektrum HRESIMS. Spektrum UV dan IR senyawa **2** dalam metanol memberikan serapan maksimum pada λ_{maks} ($\log \epsilon$) : 210 (4,80), 276

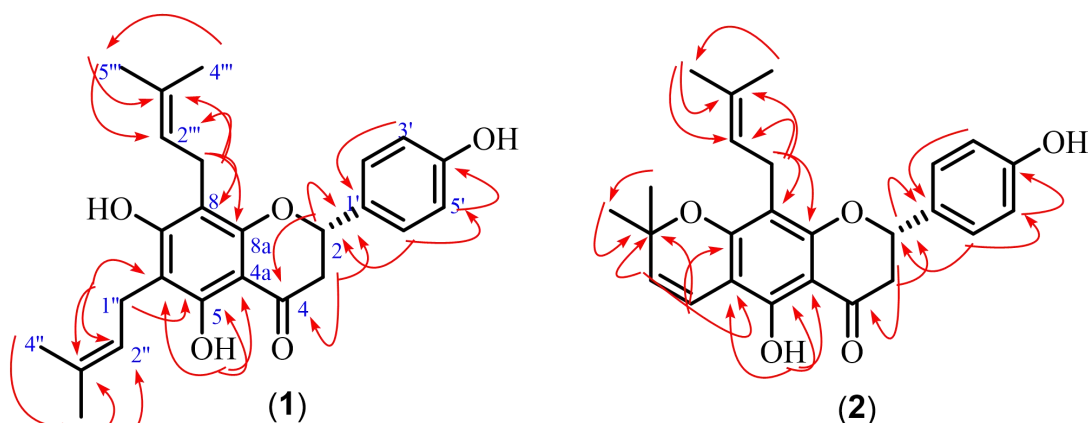
(4,85), 302 *sh* (4,86) nm dan spektrum IR memperlihatkan pita serapan pada ν_{maks} : 3417 (OH), 1715 (C=O laktone terkonyugasi), 1535-1450 (C=C aromatik) dan 1126 (eter) yang mirip dengan senyawa **1** [10]. Spektrum ^1H -NMR (400 MHz, Tabel-2) senyawa **2** dalam CDCl_3 memperlihatkan tiga buah sinyal proton *doublet*

doublet pada δ_H 5,35 (1H, *dd*, $J = 12,9$; 3,1 Hz; H-2), δ_H 3,05 (1H, *dd*, $J = 17,1$; 12,9 Hz; H-3_{ax}), dan δ_H 2,81 (1H, *dd*, $J = 17,1$; 2,9 Hz, H-3_{eq}) serta sepasang sinyal aromatik monosubstitusi ($J = 8,6$ Hz) pada δ_H 7,34 dan 6,88 yang mirip dengan senyawa **1**. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa **2** memperlihatkan adanya sinyal proton hidroksi, isoprenil dan pirano. Sinyal *singlet* pada δ_H 12,26 merupakan ciri khas dari proton hidroksi (5-OH) yang membentuk chelat dengan karbonil di C-4. Sinyal proton isoprenil terdiri dari satu sinyal proton vinilik pada 5,16 (*t*, $J = 7,4$ Hz, H-2''), satu sinyal *doublet* metilen pada δ_H 3,21 (*d*, 7,4 Hz; H-1'') serta dua sinyal *singlet* metil pada δ_H 1,80 (H-4'') dan δ_H 1,68 (H-5''). Sinyal proton pirano terdiri dari sepasang sinyal proton *cis* vinilik ($J = 10,0$ Hz) pada δ_H 6,65 (H-3''') dan δ_H 5,51 (H-2''') serta dua sinyal *singlet* metil pada δ_H 1,46 (H-4''') dan δ_H 1,45 (H-5'''). Spektrum $^{13}\text{C NMR}$ senyawa **2** memperlihatkan

23 sinyal atom karbon yang mewakili 25 sinyal karbon. Penempatan gugus isoprenil dan pirano ditetapkan berdasarkan analisis spektrum HMQC dan HMBC. Sinyal proton pada δ_H 12,26 (5-OH) memperlihatkan korelasi dengan satu sinyal karbon oksiaril pada δ_C 156,6 (5-OH) dan dua sinyal karbon kuarternar pada δ_C 102,7 (C-4a) dan δ_C 102,8 (C-6). Sinyal proton *cis* vinilik dari pirano pada δ_H 5,51 (H-2''') berkorelasi dengan dua sinyal karbon kuarternar pada δ_C 78,1 (C-1'') dan δ_C 102,8 (C-6). Hasil ini menunjukkan gugus pirano terhubung di C-6 dan C-7 sekaligus menempatkan gugus isoprenil terikat di C-8. Berdasarkan analisis spektrum NMR maka senyawa **2** dikenal dengan nama lupinifolin [4]. Korelasi antara sinyal proton dengan sinyal karbon dalam dua atau tiga ikatan pada spektrum HMBC yang utama untuk mendukung struktur senyawa aurapten hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel-2 dan Gambar 2.

Tabel 2. Data spektrum NMR senyawa lupinifolin (**2**) dalam CDCl_3 .

No. C	δ_H (mult, J Hz)	δ_C	HMBC
2	5,35 (<i>dd</i> , 12,9; 3,1)	78,5	C-1', C-2'/6'
3	3,05 (<i>dd</i> , 17,1; 12,9) 2,81 (<i>dd</i> , 17,1; 3,1)	43,3	C-2. C-4
4	-	196,4	-
4a	-	102,7	-
5	-	156,6	-
6	-	102,8	-
7	-	159,8	-
8	-	108,6	-
8a	-	159,3	-
1'	-	131,1	-
2'/6'	7,34 (<i>d</i> , 8,6)	127,7	C-2, C-3'/5', C-4'
3'/5'	6,88 (<i>d</i> , 8,6)	115,5	C-1', C-2'/6', C-4'
4'	-	155,8	-
1''	3,21 (<i>d</i> , 7,4)	21,5	C-5, C-6, C-7, C-2', C-3'
2''	5,16 (<i>t</i> , 7,4)	122,5	C-4'', C-5''
3''	-	131,0	-
4''	1,80 (<i>s</i>)	25,8	C-2'', C-3'', C-5''
5''	1,68 (<i>s</i>)	17,8	C-2'', C-3'', C-4''
1'''	-	78,1	-
2'''	5,51 (<i>d</i> , 10,0)	126,0	C-6, C-2'''
3'''	6,65 (<i>d</i> , 10,0)	115,7	C-5, C-7, C-2'''
4'''	1,46 (<i>s</i>)	28,4	C-1''', C-2''', C-5'''
5'''	1,45 (<i>s</i>)	28,3	C-1''', C-2''', C-4'''
5-OH	12,26 (<i>s</i>)	-	C-4a, C-5, C-6



Gambar 2. Korelasi HMBC yang utama pada senyawa 1-2

Uji aktivitas antimalaria senyawa lonkokarpol A (**1**) dan lupinifolin (**2**) hasil isolasi terhadap *Plasmodium falciparum* strain 3D7 menunjukkan nilai daya hambat konsentrasi IC_{50} masing-masing senyawa sebesar 1,18 dan 0,82 $\mu\text{g/ml}$. Hasil aktivitas ini menunjukkan kedua senyawa flavanon terisoprenilasi mempunyai aktivitas antimalaria yang sangat poten. Keaktifan senyawa lupinifolin mempunyai keaktifan yang lebih tinggi dibandingkan klorokuin diphosfat ($IC_{50} = 1,03 \mu\text{g/ml}$). Siklisasi antara gugus hidroksi di C-7 dengan gugus isoprenil di C-6 membentuk cincin piran meningkatkan aktivitas antimalaria dibandingkan senyawa lonkokarpol A.

KESIMPULAN

Dua senyawa flavanon terisoprenilasi yakni lonkokarpol A (**1**) dan lupinifolin (**2**) telah berhasil diisolasi dari kulit batang *E. fusca* L.. Aktivitas antimalaria senyawa lonkokarpol A (**1**) dan lupinifolin (**2**) terhadap *Plasmodium falciparum* menunjukkan aktivitas yang sangat poten.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Prof. Dr. Yana M. Syah yang telah membantu dalam pengukuran spektrum NMR dan HRESIMS.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Herlina, T., Supratman, U., Soedjanaatmadja, U.M.S., Subarnas, A., Sutardjo, S., Abdullah, N.R., Hayashi, H., (2010). Anti-malarial compound from the stem bark of *Erythrina variegata*, *Indonesian J. Chem*, 9 (2), 308-311.
- [2] Tjahjandarie, T.S., Pudjiastuti, P., Saputri, R.D., Tanjung, M., (2014). Antimalaria and antioxidant activity of phenolic compounds isolated from *Erythrina crista-galli* L. *J. Chem. Pharm. Res.* 6, 786–790.
- [3] Innok, P., Rukachaisirikul, T., Suksamrarn, A., (2009), Flavanoids and pterocarpanes from the bark of *Erythrina fusca*, *Chem. Pharm. Bull*, 57(9), 993-996.
- [4] Khaomek, P., Ichino, C., Ishiyama, A., Sekiguchi, H., Namatame, M., Ruangrunsi, N., Saifah, E., Kiyohara, H., Otoguro, K., Omura, S., Yamada, H., (2008), In vitro antimalarial activity of prenylated flavonoids from *Erythrina fusca*, *J. Nat Med*, 62, 217-220.
- [5] Tjahjandarie, T.S., Tanjung, M., (2015). Phenolic compounds from the stem bark of *Erythrina orientalis* and their cytotoxic and antioxidant activities. *Der Pharma Chem*, 7(1), 206-211.
- [6] Tanjung, M., Saputri, R.D., Tjahjandarie, T.S., (2017). 4-Methoxy-3-(3-methylbut-2-en-1-yl)-7-((3-methylbut-2-en-1-yl)oxy) quinolin-2(1H)-one from *Melicope moluccana* T.G. Hartley. *Molbank*. M939. 2, 1-5.
- [7] Tjahjandarie, T.S., Tanjung, M., (2015). Lead compound antimalaria dan antioksidan senyawa alkaloid, flavonoid, dan kumarin dari *Limonia accidisima* L.. *Laporan Akhir Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi, Universitas Airlangga*. 1-45.
- [8] Tanjung, M., Saputri, R.D., Tjahjandarie, T.S., (2016). Antimalarial and antioxidant of isoprenylated coumarins from the stem bark of *Mesua borneensis* L.. *J Biol Active Prod from Nature*. 6, 95-100.

- [9] Marlina, E., Tjahjandarie, T.S., Tanjung, M., (2015). Isoprenylated flavanone derivatives from *Macaranga hosei* King ex Hook F. *Der Pharmacia Lettre*. 7(3), 153-156.
- [10] Tanjung M, Mujahidin D, Hakim EH, Darmawan A, Syah Y.M. (2010). Geranylated flavonols from *Macaranga rhizinoides*. *Nat Prod Commun*. 5,1209-1211.
- [11] Marlina, E., Tjahjandarie, T.S., Tanjung, M., (2016). Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari *Macaranga pearsonii* Merr. *J. Kimia Mulawarman*. 13(2), 97-100.